

# 液相色谱-串联质谱联用技术检测抗高血压药物依从性在我国临床试验中的价值

王悦<sup>1</sup>, 孙宁玲<sup>2</sup>, 王捷<sup>1,3</sup>

1. 南京医科大学第一附属医院, 临床医学研究院, 江苏 南京 210029; 2. 北京大学人民医院  
心血管内科; 3. 哥伦比亚大学医学院心脏科, 美国 纽约 NY10032

服药依从性不佳是高血压管理中普遍存在的问题, 虽然可以通过询问患者用药史并结合处方记录、患者用药的计数, 以及电子药盒来提高服药依从性, 但仍需要更客观和高灵敏度的方法与传统方法相结合, 来监测和管控高血压患者的服药依从性。2022年初, 欧洲高血压学会首次发布《建立和应用化学检测方法监测高血压患者依从性》共识性文件<sup>[1]</sup> (“共识”), 推荐建立标准化液相色谱-串联质谱联用 (liquid chromatography tandem mass spectrometry, LC-MS/MS) 方法监测高血压患者服药依从性, 并首先应用于两种临床情境: 一是顽固性高血压患者; 二是在服用第二种抗高血压药物后收缩压降低幅度  $< 10$  mmHg (1 mmHg = 0.133 kPa) 的患者<sup>[1]</sup>。服药依从性还直接影响抗高血压药物和医疗器械临床试验的成败, 客观监测患者服药依从性可提高抗高血压药物临床试验结果的可靠性。本文主要参照“共识”中推荐的基本原则, 阐述 LC-MS/MS 方法监测患者服药依从性在中国抗高血压药物临床试验中的应用价值、注意要点以及未来应用趋势。

## 1 服药依从性在高血压临床试验中的重要意义

高血压是常见慢性疾病, 如果未及早发现和适当治疗, 可能导致心肌梗死、脑卒中、肾功能衰竭甚至死亡, 造成沉重经济和社会负担<sup>[2]</sup>。高血压患者多数需要长期服用抗高血压药物, 但 30%~50% 的患者存在不依从服药的情况<sup>[3]</sup>。服药依从性不佳最直接的后果是血压控制率降低, 增加患者心血管疾病发病率和死亡率。多个研究结果显示, 23%~66% 的顽固性高血压患者其实并非难治, 而是服药依从性不佳所导致<sup>[4]</sup>。

服药依从性与药物干预和医疗器械干预治疗高血压临床试验的成败相关。在抗高血压药物临床试验中, 患者总体服药依从性为 43%~78%<sup>[5]</sup>, 导致药物的疗效被低估。该问题同样出现在非药物干预 (器械

干预) 抗高血压临床试验中, 在接受器械治疗的高血压研究中同时服用抗高血压药物时, 服药依从性是干扰降压作用评价的关键混杂因素, 甚至会翻转临床试验的结论。

经导管去肾神经术 (renal denervation, RDN) 是一种使用射频或超声等能量去除肾交感神经的经导管介入性的器械治疗高血压方法, 近年来备受关注。为了保护患者安全, 在未经证实 RDN 确切降压疗效的情况下, 参加 RDN 临床试验的高血压患者不能长期停止服用抗高血压药物 (最长停药时间不能超过 3~4 个月), 因此参加 RDN 临床试验的患者不可避免地会伴随服用抗高血压药物, 这成为评价 RDN 降压疗效的一个重要的混淆因素。早期 Symplicity HTN-1 和 HTN-2 等临床试验显示了 RDN 治疗顽固性高血压的积极疗效和安全性<sup>[6-7]</sup>, 但随后的 Symplicity HTN-3 研究为阴性结果, 事后分析 (post-hoc analysis) 显示研究失败的重要原因之一就是患者服药依从性不佳<sup>[8]</sup>, 干扰了器械治疗对血压的作用。在我国学者牵头采用国产肾神经标测/选择性消融系统 (SyMapCath<sup>®</sup> TM/SymPioneer<sup>®</sup> TM) 进行的 RDN 交感神经图谱/肾神经消融试验 (sympathetic mapping/ablation of renal nerves trial, SMART) (ClinicalTrials.gov, NCT02761811) 临床试验中, 为了准确评估患者所服用抗高血压药物对 RDN 的影响, 率先应用 LC-MS/MS 方法对患者的尿液进行分析, 确保试验过程中受试者的服药依从性<sup>[9]</sup>, 并严格控制入选患者抗高血压药物的种类、剂量、厂家和加减顺序, 这与欧洲高血压协会等国际组织达成的共识高度一致。之后所开展的 SPYRAL HTN OFF-MED 和 SPYRAL HTN ON-MED 两项临床试验中也采用高效 LC-MS/MS 方法定性检测患者血浆或尿液中抗高血压药物, 以监测患者实际服药依从性<sup>[10]</sup>。

## 2 抗高血压药物服药依从性检测方法的发展历程

监测服药依从性的方法有患者自述、患者日志、处

doi:10.16439/j.issn.1673-7245.2023.07.001

通信作者: 王捷, E-mail: jw147@cumc.columbia.edu

方记录、药物计数、电子药盒等,这些都属间接监测患者和社会认知的主观影响,研究证实容易高估患者的依从性<sup>[11]</sup>。监测服药依从性准确性最高的是直接观察治疗,可避免间接监测法潜在的主观偏倚,但需要大量人力和物力,经济成本高,限制了其常规应用<sup>[12]</sup>。

近年来,色谱检测技术飞速发展,LC-MS/MS技术被用于检测人体生物样本中药物含量,以监测服药依从性。该方法可在3~5 min内精确检测人血浆和尿液中多种药物及其代谢物的含量,检测灵敏度可达mg/L级别<sup>[13]</sup>。该技术近十多年来在北美得到长足发展<sup>[14-15]</sup>,已广泛应用于临床诊断、生命科学和医学制药等领域<sup>[16]</sup>。在我国,这种检测方法费用已经大幅下降,LC-MS/MS技术在我国临床领域的应用进入到了快速发展时期<sup>[14]</sup>,近几年一系列有关LC-MS/MS临床应用的方法学指南建议与专家共识陆续出台<sup>[17-19]</sup>,这也促进了该技术的发展。

欧洲高血压学会等多个国际学会推荐将LC-MS/MS方法应用于高血压患者管理中,检测患者的实际服药依从性<sup>[13]</sup>,并将这种检测方法归为“化学依从性检测法(chemical adherence testing)”<sup>[13]</sup>,其检测谱可涵盖尿液或血液中所有种类抗高血压药物及其代谢物。欧洲心脏病学会和欧洲高血压学会指南认为该法可满足临床需求,具有广阔的应用前景<sup>[4]</sup>。

欧洲高血压学会建议根据高血压临床试验设计的特点和检测方法本身性质,采用化学依从性检测法与其他间接监测法等多种方法结合,共同评估服药依从性,如考虑检测方法的可靠性、对白大衣依从的灵敏度、长期可行性以及经济成本等因素<sup>[1]</sup>,所得的评估结果可更加准确<sup>[1,3,12,20]</sup>。

### 3 在临床试验中应用 LC-MS/MS 监测抗高血压药物依从性需注意的要点

依照欧洲高血压学会“共识”中推荐的基本原则,结合临床试验的一般要求和高血压临床试验的特点,特别是通过SMART试验所获得的实际经验,笔者认为将LC-MS/MS应用于临床试验中监测抗高血压药物依从性时,至少有以下五点需要考虑:

(1)伦理学要求:在临床试验中检测人体样本中抗高血压药物含量以监测服药依从性,必须获得当地伦理委员会的批准(当超过500例高血压患者时还需获得中国人类遗传资源管理办公室的批准),应告知患者检测的背景和意义,获得患者的同意,并将过程记录在诊疗记录中。当检测出患者不依从处方服药时,随访医生需充分考虑多种导致依从性不佳的可能因素,采取合适的方式与患者沟通,避免污名化处理。

(2)抗高血压药物检测谱:LC-MS/MS检测抗高

血压药物谱应符合实施临床试验所在地的诊疗环境。在欧洲和美国,20~25种药物可覆盖95%的处方抗高血压药物,5种药物可覆盖50%以上处方抗高血压药物<sup>[21]</sup>。中国临床诊疗环境非常复杂,数据显示,在三甲医院内至少存在着六大类172种抗高血压药物,中药复方制剂尚未计算在内<sup>[9]</sup>。对于一些半衰期短的药物,同时检测原型药物及其代谢物将有助于提高检测准确性。

(3)检测方法学验证:检测实验室应具有国际标准化组织15189等相关国际认证,在完成方法学验证后再开展正式大规模检测。目前尚未有针对LC-MS/MS方法检测抗高血压药物的指导原则,但一般要求定性检测的方法学验证至少涵盖干扰实验、基质效应、稳定性研究和检测限等指标;对于定量检测,还应包括检测下限、线性、偏差、回收率和精密度的验证,同时建议采用外部质量控制。

(4)检测的实施:LC-MS/MS最常用的检测样本为人体血液和尿液。血液标本需要有创性采集,但可以提供较多关于服药时间和规律信息,常用于定量分析;尿液相对血液易于采集,但由于患者个体代谢差异造成检测浓度结果波动大,常用于定性检测。“共识”建议患者到医院就诊时采集样本,尿液最少采集1.5 mL,血液标本至少1.0 mL。临床试验中样本采集次数和检测间隔,主要根据试验阶段和研究设计而确定,如是探索性研究还是验证性研究,是药物还是医疗器械临床试验等。从标准化原则出发,对多中心临床试验应当委托第三方有资质的实验室统一进行检测,样本转移时使用冷链运输,同时考虑避光<sup>[1]</sup>。在临床试验过程中,常在获得患者服药依从性结果后,才能实施方案所规定的后续操作步骤,因此检测实验室应当在最短时间内(一般要求1~2 d)出具检测结果。

(5)检测结果解读:需特别注意的是,具有极短或极长消除半衰期的药物可能会导致假阴性或假阳性结果;肾功能受损或某些药物相互作用,也会改变清除率而可能影响检测结果,因此,为了避免对结果的误判,检测人员需结合药代动力学、药物遗传学和药理学相互作用等对检测结果进行充分解读。另外,当LC-MS/MS与其他间接检测法联合应用并检测结果不一致时,应以后者更具客观性的结果为准,并可将LC-MS/MS检测方法的科学性和可靠性,以通俗易懂的语言向患者进行宣教,纠正其服药不依从性。

### 4 建立符合中国诊疗环境的 LC-MS/MS 检测抗高血压药物方法

近年来,我国药监部门和研究人员意识到临床试

验中监测服药依从性的必要性,但尚未建立指导性文件并采取有效的手段监测患者的服药依从性。在我国临床试验实践中,多年来一直采用药品计数等方法监测服药依从性,尚未在高血压的临床试验中建立 LC-MS/MS 法监测高血压患者服药依从性的先例。

目前,建立 LC-MS/MS 检测抗高血压药物方法具有巨大的挑战,因为高血压患者使用了大量仿制抗高血压药物。调查发现,中国临床实践中使用的仿制药数量众多,平均每种药物活性成分有 113.9 种获批药物;而美国食品药品监督管理局数据显示在美国的临床实践中,平均每种活性成分只有 4.2 种获批药物<sup>[22]</sup>。医疗器械临床试验方法学也日趋接轨国际水准。

我国学者已开始建立并应用符合中国诊疗环境的 LC-MS/MS 方法,用来监测抗高血压器械注册临床试验高血压患者服药的依从性<sup>[9]</sup>。Wang 等<sup>[9]</sup>在应用肾神经标测和选择消融系统开展的以高血压为适应证的注册临床试验(SMART 研究)中,使用可检测尿液中涵盖六大类 55 个化学分子的抗高血压药物的 LC-MS/MS 方法,同时联合传统药品计数方法,共同检测患者的服药依从性,以排除抗高血压药物对研究带来的影响。该研究对连续入组的 92 例高血压患者的尿样进行监测,显示在完成 28 d 药物洗脱期时、去肾神经手术后 3 和 6 个月时,分别有高达 92.4%, 97.8% 和 95.5% 的患者完全依从服用抗高血压药物<sup>[9]</sup>。该研究采用的 LC-MS/MS 方法不仅对患者服药依从性进行了客观监测,同时还确保了患者在临床试验中保持良好的用药依从性,排除了药物对器械治疗降压的干扰关键混杂因素,保证了该创新器械治疗高血压临床试验的质量<sup>[9]</sup>。

## 5 LC-MS/MS 检测高血压患者服药依从性的应用场景及局限性

随着 LC-MS/MS 检测技术的逐步推广,预计未来采用该方法检测高血压患者服药依从性主要应用于以下两种场景的临床试验中:

(1)在高血压药物临床试验中,对患者服药依从性进行精准检测和管控。在有条件的医院可以在院内建立 LC-MS/MS 检测方法,无条件的医院可将标本送到第三方检测中心测定。

(2)在器械治疗高血压的临床试验中,检测和分析患者在试验中降压药物的服用情况,为管控患者的服药依从性提供依据,排除药物对器械降压效果评估的干扰。

未来若检测成本进一步降低,该方法也有可能扩展到真实世界临床研究中,如对“难治性高血压”或者反复出现合并症的“极高危的高血压患者”的服药情况

做出正确判断,了解患者是否按医嘱服药,寻找血压控制不佳的原因,为正确诊疗提供依据,但目前还受实际临床诊疗流程和费用等因素所限制。

然而,LC-MS/MS 方法应用于临床试验中仍存在局限性:首先,服药依从性是动态的,受诸多外部因素影响,单次检测只能检测到依从性的横断面结果,无法反映患者长期的服药情况,难以关联患者心血管结局事件;其次,目前 LC-MS/MS 对抗高血压药物的检测,多是定性或是半定量的检测方法,无法给出准确的定量信息;再者,如患者在提前知晓的情况下,可能会在采集尿样或血样前改变服药的行为,即产生白大衣依从,从而高估患者真实的服药依从性。因此,建议在短时间内(即获得患者知情同意当天)或长期不定时(告知患者将定期监测依从性或采取样本,但不告知具体何时)进行药物监测,则可以一定程度上克服这一缺陷<sup>[23]</sup>。鉴于这些局限性,选择多种方法以组合方式进行检测,可获得更为准确的检测结果。

LC-MS/MS 方法联合传统间接检测法,可更加全面地监测高血压患者服药依从性,从而在高血压临床试验中帮助排除药物干扰产生的关键混杂因素,获得更可靠的临床试验结果,提供高质量的循证医学证据。我国学者建立的符合中国诊疗环境的 LC-MS/MS 检测尿液中抗高血压药物方法,已应用于创新医疗器械治疗高血压的临床试验中。虽然该检测方法的行业标准有待继续完善,但希望通过该检测技术在高血压临床试验中探索应用,能够进一步完善我国药物和医疗器械临床评价技术和临床评价体系。

## 参考文献

- [1] Lane D, Lawson A, Burns A, et al. Nonadherence in hypertension: how to develop and implement chemical adherence testing [J]. *Hypertension*, 2022, 79(1): 12-23.
- [2] Kearney PM, Whelton M, Reynolds K, et al. Global burden of hypertension: analysis of worldwide data [J]. *Lancet*, 2005, 365(9455): 217-223.
- [3] Vrijens B, Antoniou S, Burnier M, et al. Current situation of medication adherence in hypertension [J]. *Front Pharmacol*, 2017, 8: 100.
- [4] Jung O, Gechter JL, Wunder C, et al. Resistant hypertension? Assessment of adherence by toxicological urine analysis [J]. *J Hypertens*, 2013, 31(4): 766-774.
- [5] Cramer J, Rosenheck R, Kirk G, et al. Medication compliance feedback and monitoring in a clinical trial: predictors and outcomes [J]. *Value Health*, 2003, 6(5): 566-573.
- [6] Krum H, Schlaich M, Whitbourn R, et al. Catheter-based renal sympathetic denervation for resistant hypertension: a multicentre safety and proof-of-principle cohort study [J]. *Lancet*, 2009, 373(9671): 1275-1281.
- [7] Krum H, Barman N, Schlaich M, et al. Catheter-based renal

sympathetic denervation for resistant hypertension: durability of blood pressure reduction out to 24 months[J]. Hypertension, 2011,57(5):911-917.

[8] Kandzari DE, Bhate DL, Brar S, et al. Predictors of blood pressure response in the SYMPPLICITY HTN-3 trial[J]. Eur Heart J, 2015,36(4):219-27.

[9] Wang Y, Wang JW, Wang Y, et al. Monitoring antihypertensive medication adherence by LC-MS/MS: method establishment and clinical application[J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2021,78(4):581-596.

[10] Kandzari DE, Kario K, Mahfoud F, et al. The SPYRAL HTN global clinical trial program: rationale and design for studies of renal denervation in the absence (SPYRAL HTN OFF-MED) and presence (SPYRAL HTN ON-MED) of antihypertensive medications[J]. Am Heart J, 2016,171(1):82-91.

[11] Vrijens B, Urquhart J. Methods for measuring, enhancing, and accounting for medication adherence in clinical trials[J]. Clin Pharmacol Ther, 2014,95(6):617-626.

[12] Breckenridge A, Aronson JK, Blaschke TF, et al. Poor medication adherence in clinical trials: consequences and solutions[J]. Nat Rev Drug Discov, 2017,16(3):149-150.

[13] Unger T, Borghi C, Charchar F, et al. 2020 International Society of Hypertension global hypertension practice guidelines[J]. Hypertension, 2020,75(6):1334-1357.

[14] 刘华芬. 液相色谱-串联质谱技术临床应用思考与面临的挑战 [EB/OL] (2021-12-16)/[2022-10-16]. <https://www.ivdchina.org/cclabd/show-1283.html>.

[15] Lynch KL. CLSI C62-A: a new standard for clinical mass spectrometry[J]. Clin Chem, 2016,62(1):24-29.

[16] 易可可, 谢洁, 龚晓云, 等. 液相色谱-串联质谱应用研究进展[J]. 计量科学与技术, 2021,2:7-15.

[17] 中国医师协会检验医师分会临床质谱检验医学专业委员会. 液相色谱串联质谱临床检测方法的开发与验证[J]. 检验医学, 2019,34(3):189-196.

[18] 中国药理学会治疗药物监测研究专业委员会, 中国药学会医药生物分析专业委员会, 中国科学院大连化学物理研究所. 色谱技术用于治疗药物监测质量控制的专家共识(2021 版)[J]. 中国药理学杂志, 2021,56(17):1443-1448.

[19] 中国标准化协会. 液相色谱-质谱联用用于临床治疗药物监测通用技术要求(征求意见稿)[EB/OL] (2022-09-16)/[2022-10-16]. [www.china-cas.org/zxdtxhzt/2967.jhtml](http://www.china-cas.org/zxdtxhzt/2967.jhtml).

[20] Fitzgerald RL, Rivera JD, Herold DA. Broad spectrum drug identification directly from urine, using liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Clin Chem, 1999,45(8 Pt 1):1224-1234.

[21] NHS Digital. Prescription Cost Analysis-England, 2018 [PAS] [EB/OL]. <https://digital.nhs.uk/data-and-information/publications/statistical/prescription-cost-analysis/2018>. 2019-03-28/2022-09-10.

[22] Yan ZP, Chen YW. Comparative analysis of approved generic drug in China and America[J]. Chin New Drug, 2007,16(21):1731-1733.

[23] Berra E, Azizi M, Capron A, et al. Evaluation of adherence should become an integral part of assessment of patients with apparently treatment-resistant hypertension [J]. Hypertension, 2016,68(2):297-306.

收稿日期:2022-08-12 责任编辑:周卫

• 简 讯 •

### 4 种降压药血压反应的异质性:一项随机临床试验

Sundström J, Lind L, Nowrouzi S, Hagström E, Held C, Lytsy P, Neal B, Marttala K, Östlund O. Heterogeneity in blood pressure response to 4 antihypertensive drugs: a randomized clinical trial. JAMA, 329(14): 1160-1169.

高血压是全世界过早死亡的主要危险因素。多种降压疗法可用,但通过个性化靶向药物的最大获益潜力尚不清楚。该研究旨在探讨并量化针对特定个体的特定药物的潜力,以最大限度地提高降压效果。方法:一项随机、双盲、重复交叉试验,在瑞典一家门诊研究所对心血管事件风险较低的 1 级高血压男性和女性进行研究。混合效应模型用于评估个体对一种治疗的反应比另一种更好的程度,并估计个性化治疗可实现的额外血压降低。每个参与者按随机顺序接受 4 类不同降压药物的治疗[赖诺普利(血管紧张素转换酶抑制剂)、坎地沙坦(血管紧张素受体阻滞药)、氢氯噻嗪(利尿剂)和氨氯地平(钙通道阻滞剂)],重复治疗 2 类。

在每个治疗期结束时测量日间动态收缩压。结果:280 名随机参与者中有 270 人(54%为男性;平均年龄 64 岁)记录了 1 468 个完整的治疗期(中位时间 56 d)。不同治疗的血压反应在个体之间差异有统计学意义( $P < 0.001$ ),特别是赖诺普利与氢氯噻嗪、赖诺普利和氨氯地平、坎地沙坦与氢氯噻嗪以及坎地沙坦和氨氯地平的差异。赖诺普利与坎地沙坦、氢氯噻嗪与氨氯地平的差异排除了较大差异。个性化治疗有可能额外降低 4.4 mmHg 的收缩压。结论:该结果揭示高血压药物治疗后血压反应的异质性,可能对个性化治疗有启示。

刘青(译),练桂丽(审)